第39卷 第3期　　昆 虫 学 报　　Vol.39, No.3
1996年 8 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Aug., 1996

广东小菜蛾对苏芸金杆菌的抗性研究*

冯 夏　陈焕瑜　帅应垣　谢齐贺　卢悦昌

(广东省农业科学院植保所　广州　510640)

摘要　广东省深圳、东莞、惠阳及博罗等供香港(以下简称供港)菜区小菜蛾对有机化学农药的抗性与广州内销菜区相近或稍高，对Bt杀虫剂的抗性则是供港菜区明显高于广州内销菜区。几种酶抑制剂TPP、SV1及Pb对Bt制剂无明显增效作用，可见小菜蛾对Bt制剂的抗性与酯酶和多功能氧化酶(MFO)的关系不大。用Bt制剂Dipel(大宝)连代选育小菜蛾敏感品系，选育18代，小菜蛾的抗性较选育前提高35倍。该抗性品系小菜蛾对个别菌株Bt及巴丹、杀虫双、速灭杀丁、万灵、敌敌畏等无交互抗性，而对昆虫生长调节抑制剂有轻微交互抗性。相反，用巴丹和杀虫双选育出的小菜蛾抗性品系对Dipel仍表现敏感。抗性品系小菜蛾在无触毒条件下饲养，抗性会自然减退，但不同类杀虫剂的抗性减退速率不尽相同。

关键词　小菜蛾，Bt杀虫剂，抗性选育，交互抗性，增效剂

小菜蛾 *Plutella xylostella* L. 是世界性十字花科蔬菜主要害虫，也是产生抗药性最严重的害虫之一。1953年Ankersmit[1]首次报道小菜蛾在印尼爪哇对DDT产生抗性后。Barroga[2]; Asakawa[3]; Sudderudin[4]; Sun[5]; Tabashnik[6]等先后报道了小菜蛾在菲律宾、日本、马来西亚、台湾及美国的抗药性。小菜蛾的抗性问题受到越来越多专家学者的重视，近年来国内也专门开展了小菜蛾抗性方面的研究，唐振华等[7,8]报道了乙酰胆碱酯酶及解毒酯酶在小菜蛾抗性中的作用；陈之浩等[9]研究报道了小菜蛾对杀虫双、巴丹的抗性形成及其机制。微生物杀虫剂苏芸金杆菌(Bt)是目前广东菜区防治小菜蛾的主要药剂之一，本研究的主要目的是探讨田间小菜蛾对Bt及常用化学农药的抗性关系；通过室内选育小菜蛾对Bt的抗性品系，探索小菜蛾对微生物杀虫剂的抗性形成过程及其机制；抗性品系小菜蛾对几类药剂的相互关系。为延长Bt杀虫剂的使用寿命，延缓小菜蛾抗性产生，田间小菜蛾的有效治理提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试昆虫：台湾敏感品系小菜蛾虫源由华南农业大学昆虫毒理室提供；本室长

* 广东省科委重点开发科研项目、帅应垣同志为课题主持人该项研究属“八五”国家科技攻关项目中小菜蛾抗性治理研究子专题部分内容
1994-08-22收稿，1995-02-27收修改稿

期室内饲养；广州菜区小菜蛾虫源从广州市郊菜地采集；供香港菜区小菜蛾虫源从东莞、深圳、惠阳及博罗各供港菜场采集。

1.1.2　测试药品：Dipel(大宝)，*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* 16000 I.U./mg. WP. 美国 Abbott 公司提供；扬州青虫灵 Bt. var. *kurstaki* 16000 I.U./mg. WP. 江苏扬州微生物实验厂提供；ABG－6327. Bt. *aizawai*, 15000 I.U./mg. WP. 美国 Abbott 公司提供；敌敌畏(DDVP)，dichlorvos，80%EC，邯郸滏阳农药厂产品。马拉硫磷、malathion 广东高州化工总厂农药厂产品；氰戊菊酯(Sumicidin)，fenvalrate，20%EC，日本住友化成工业株式会社产品；巴丹(Padan)，Cartap. 98%WP. 日本武田药品工业株式会社产品；万灵(Lannate)，methomyl，24%L，美国杜邦中国有限公司产品。抑太保(IKI－7899)，chlorfluazuron，5%EC，日本石原产业株式会社产品；爱比菌素(Agrimec)，abamectin. 美国默沙东公司产品。增效磷(SV1)，90% 原油，山东省乐陵农药厂生产；增效醚(Pb)90% 原油 piperony butoxide 由中科院动物所提供；三苯基磷酸酯(TPP)，90% 原粉 tripheyl phosphate 上海农药所提供。

1.2　试验方法

(1) 微生物杀虫剂 Bt 制剂及以胃毒作用为主的化学药剂测试采用叶片浸渍饲喂法[10]。将 Bt 制剂用倍量稀释法，稀释 5～7 个浓度，再将小菜蛾较爱取食的菜心叶片在药液中浸渍(5～10 s)，取出凉干，最后放 12 cm 直径培养皿中，并接入小菜蛾 3 龄幼虫。(2) 触杀作用较强的化学农药采用喷雾法。方法是将菜心叶片的一面在自制喷雾塔内喷雾，然后取出，反转叶片，在未喷药的一面接上小菜蛾 3 龄幼虫，再放入喷雾塔内喷雾。喷雾压力 $2\ kg/cm^2$，药液量均为 5 mL(触药量与 Potter's，压力 $1.25\ kg/cm^2$，药液量 2 mL 相当)。最后取出置于直径为 12 cm 的培养皿中。空白对照组饲料叶用清水处理。(3) 以上两种测试方法均为 3 次重复，每重复 15～20 头虫。处理虫均置于 23 ℃，L:D＝12:12，人工气候箱中，48 h 检查死虫数，计算 LC_{50} 值。(4) 增效剂 Pb、SV1、及 TPP 对 Bt 的增效作用试验是增效剂与杀虫剂按有效成分 1:1 计混合为原液，现配现用。(5) 抗性选育是采用群体筛选，由敏感品系小菜蛾每代 2～3 龄幼虫用一定浓度 Dipel 制剂饲喂，杀死其中的 40%～70%，处理后存活的个体作为下一代筛选的虫种连续选育 18 代。而抗性消退监测则是选用抗药性较强的供港菜场小菜蛾，在无毒条件下饲养 21 代。

1.3　数据处理

致死中浓度(LC_{50})，由处理浓度(mg/L)的对数值和相应的死亡机率值求出直线回归方程，并由此求出 LC_{50} 值及相关系数。对照组死亡率在 10% 以下为有效试验，处理组均计算效正死亡率。

$$\text{抗性倍数}=\frac{\text{测定品系种群的 }LC_{50}\text{ 值}}{\text{敏感品系种群的 }LC_{50}\text{ 值}}\qquad \text{增效倍数}^{*}=\frac{\text{单一杀虫剂的 }LC_{50}\text{ 值}}{\text{加增效剂后的 }LC_{50}\text{ 值}}$$

* 增效剂不作杀虫有效成分计

2 结果与分析

2.1 广东菜区小菜蛾抗性测定

结果表明(表1)，广东内陆及供港菜区小菜蛾对常用有机化学农药都产生了较明显的抗性，其中对拟除虫菊酯类的抗性最为显著，对近年发展起来的昆虫生长调节剂抑太保也有明显的抗性，抗性倍数达30.26倍。而对微生物Bt制剂，只有供港菜区小菜蛾产生抗性。可见由于栽培措施、用药频率及管理水平等不同，田间小菜蛾的抗性水平也不一致。

表1 供港菜区小菜蛾对几种农药的抗性水平

药剂 *	LC_{50} (mg /L)			抗性倍数	
	供港菜区 (RII)	广州菜区 (RI)	敏感品系 (SS)	供港菜区 (RII)	广州菜区 (RI)
Dipel (Bt)	1695.33	168.33	94.33	17.97	1.78
扬州青虫灵 Bt	929.67	62.00	30.33	30.65	2.04
Δ 氰戊菊酯	5456.23	—	68.22	78.98	—
Δ 敌敌畏	954.13	909.81	68.39	13.95	13.30
Δ 万灵	1669.14	—	151.29	11.03	—
Δ 巴丹	626.68	511.60	140.09	4.47	3.65
Δ 杀虫双	1297.57	791.47	201.65	6.43	3.92
抑太保	82.92	—	2.74	30.26	—
爱比菌素	1.56	1.70	0.21	7.21	7.43

* Δ为喷雾处理，其余为浸渍饲喂处理，下同

2.2 增效剂对Bt制剂的增效作用

由表2看出，增效剂Pb、SV1和TPP对微生物Bt制剂无增效作用。对敏感品系

表2 几种增效剂对Bt制剂的增效作用 *

处理	敏感品系		抗性品系	
	LC_{50} (mg /L)	增效比	LC_{50} (mg /L)	增效比
Dipel	34.00	—	406.67	—
Dipel+Pb	47.67	0.71	1241.67	0.33
Dipel+SV1	28.67	1.19	513.33	0.79
Dipel+Tpp	41.33	0.82	327.67	1.24
Δ 氰戊菊酯	83.55	—	5453.25	—
Δ 氰戊菊酯+Pb	—	—	71.21	76.58
Δ 氰戊菊酯+SV1	13.70	6.10	355.99	15.32

* 增效剂SV1、PB及TPP对小菜蛾的LC_{50} (mg/L) 均大于3000

Pb、SV1 和 TPP 的增效比为 0.71、1.19 和 0.82；对抗性品系 Pb、SV1 和 TPP 的增效比则分别为 0.33、0.79 和 1.24。可见小菜蛾对 Bt 的抗性机理与多功能氧化酶和酯酶的关系不大。Pb 和 SV1 对拟除虫菊酯类增效显著，表明小菜蛾对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗性主要是由于多功能氧化酶的活性增强所致。

2.3　小菜蛾对 Dipel 抗性品系(Dipel－R)的筛选

从表 3 可看出，选育前(F_0)小菜蛾敏感品系的 LC_{50} 是 30.33 mg／L，连续用大宝筛选4代其 LC_{50} 为 188.33mg／L，F_7 的 LC_{50} 是 365.33mg／L，F_{12} 的 LC_{50} 为 695.33mg／L，F_{18} 的 LC_{50} 上升至 1 077.33 mg／L。与筛选前相比抗性提高了 35.52 倍。由表可知，用 Dipel 选育的小菜蛾对扬州青虫灵的抗性也同时逐步上升，扬州青虫灵与 Dipel 间存在交互抗性。

表 3　Dipel 对敏感小菜蛾的抗性选育结果

选育代数	Dipel		青虫灵(Bt)	
	LC_{50} (mg／L)	抗性倍数 (与 F_0 相比)	LC_{50} (mg／L)	抗性倍数 (与 F_0 相比)
F_0	30.33	1.00	29.5	1.00
F_4	188.33	6.21	—	—
F_5	298.00	9.82	—	—
F_6	262.33	8.65	205.33	7.08
F_7	365.33	12.04	186.00	6.41
F_8	423.33	13.96	—	—
F_9	542.67	17.89	—	—
F_{11}	515.67	17.00	—	—
F_{12}	695.33	22.92	—	—
F_{17}	555.00	18.30	336.33	11.60
F_{18}	1077.33	35.52	—	—

2.4　Dipel－R 品系的交互抗性谱

台湾敏感品系经 18 代室内选育得到 Dipel－R 品系。分别测定敏感品系和成功选育后的 Dipel－R 品系对 Bt 制剂 ABG－6327 及有机化学农药巴丹、敌敌畏、杀虫双、氰戊菊酯、万灵和抑太保的敏感性。结果表明(表 4)，筛选后 Dipel 的 LC_{50} 值提高了 35.52 倍，扬州青虫灵上升了 11.60 倍，而 Bt 制剂 ABG－6327 只上升 1.97 倍，说明 Bt 制剂不同菌株间不一定存在交互抗性。Dipel－R 品系对有机化学农药巴丹、杀虫双、氰戊菊酯、万灵的抗性也没有明显上升，表明以上几种化学农药与 Bt 制剂间无交互抗性。值得注意的是选育后 Dipel－R 品系对 DDVP 更为敏感，它们间可能存在负交互抗性。应用时可交替使用。另外用沙蚕毒素类巴丹及杀虫双选育出的小菜蛾抗性品系，仍对 Bt 制剂表现敏感(表 5)。

表4 Dipel选育的抗性小菜蛾对几种杀虫剂的抗性

药剂	LC_{50}(mg/L)		抗性倍数
	选育前 F_0	选育后 $F_{17\sim18}$	
Dipel	30.33	1077.33	35.52
青虫灵(Bt)	29.00	336.33	11.60
ABG-6327 (Bt)	42.00	82.67	1.97
Δ 巴丹	140.09	200.72	1.43
Δ DDVP	68.39	25.71	0.38
Δ 杀虫双	99.82	171.37	1.72
Δ 氰戊菊酯	83.55	68.03	1.03
Δ 万灵	151.29	194.88	1.29
抑太保	2.74	6.80	2.48

表5 Bt对抗沙蚕毒素小菜蛾品系的毒力测定

处理	小菜蛾品系	回归方程	LC_{50} (mg/L)	相关系数	抗性指数
Dipel (大宝)	敏感品系	$Y=3.37+1.01X$	40.67	0.94	1
	抗巴丹品系 (抗64.9倍)	$Y=2.60+1.28X$	55.00	0.99	1.35
	抗杀虫双品系 (抗140倍)	$Y=1.57+2.02X$	49.67	0.99	1.22

2.5 抗性品系小菜蛾抗药性的自然消退

敏感品系小菜蛾在杀虫剂的选择压力连续作用下会迅速产生抗性。相反，抗性品系

表6 抗性小菜蛾抗性的自然消退

饲养代数	Dipel		青虫灵(Bt)	
	LC_{50} (mg/L)	毒力指数 (与 F_0 相比)	LC_{50} (mg/L)	毒力指数 (与 F_1 相比)
F_0	1695.33	2.75	929.67	5.39
F_1	617.33	1	172.33	1
F_5	348.00	0.56	94.67	8.55
F_7	273.33	0.44	81.00	0.47
F_8	237.33	0.38	126.67	0.60
F_{10}	206.67	0.33	92.00	0.53
F_{12}	146.33	0.24	58.33	0.34
F_{14}	163.00	0.26	38.33	0.22
F_{15}	105.67	0.17	43.33	0.25
F_{20}	85.67	0.14	34.67	0.20

小菜蛾在无选择压力条件下，抗性会逐渐减退(表6)。 抗性品系小菜蛾对Bt 制剂 Dipel 和青虫灵的 LC_{50} 第 1 代分别为 617.33 和 172.33 mg / L，第10代为206.67和92 mg / L，到第 20 代降至 85.67 和 34.67 mg / L，接近敏感品系水平。另外，抗性小菜蛾对化学杀虫剂的抗性消退也是存在的，但不同类杀虫剂的抗性消退速率不同(表 7)，在无触毒条件下饲养 20 代后，抗性小菜蛾对 DDVP、巴丹及杀虫双的抗性基本消失，而对拟除虫菊酯类氰戊菊酯，昆虫生长调节抑制剂抑太保的抗性消退较为缓慢，第 20代仍有 16.90 和

表 7　抗性小菜蛾对化学农药抗性的自然减退

药剂	抗性品系(F_0 代)	抗性	无毒饲养 19 ～ 20 代	抗性	敏感品系
	LC_{50} (mg / L)	指数	LC_{50} (mg / L)	指数	LC_{50} (mg / L)
Δ DDVP	954.13	13.95	95.70	1.40	68.39
Δ 巴丹	626.68	4.47	152.99	1.09	140.09
Δ 万灵	1668.14	11.03	505.80	3.34	151.29
Δ 氰戊菊酯	5456.23	79.98	1153.25	16.90	68.22
抑太保	82.92	30.26	46.83	17.09	2.74

17.10 倍的抗性。总之，害虫一旦产生抗性后是很难恢复到敏感水平的。因此在实际应用中，应尽量减少单一药剂的连续使用次数，在抗性产生之前就采取措施，防止抗性的产生。

3　讨论

室内害虫抗药性选育是研究抗性的重要手段。有关沙蚕毒类对小菜蛾室内抗性选育国内已有报道[9]。在室内抗性选育过程中，在高温高湿的广东使用微生物 Bt 制剂选育抗性的技术难度大，选择压力的选择须十分小心，种群数量要大，经探索一般用 Bt 制剂处理后 48 h 的死亡率为 40%～ 60% 较宜。另外，原始材料(小菜蛾品系)的选择也很重要，因为，原始材料的抗性水平起点不同，抗性发展的速率也不相同，观察小菜蛾对 Bt 的抗性形成过程，选用敏感品系为原始材料为好。关于广东菜区小菜蛾对 Bt 制剂的抗性及其机理，据研究结果，概括为以下几点：(1) 广东菜区小菜蛾对目前现用的化学药剂几乎都产生了不同程度的抗药性。抗性强弱是拟除虫菊酯 > 昆虫生长调节抑制 > 有机磷 > 氨基甲酸酯 > 沙蚕毒素。而对微生物杀虫剂 Bt 只有供港菜区的小菜蛾有明显的抗性。(2) 小菜蛾的抗性机理十分复杂。由于多功能氧化酶(MFO)的抑制剂 Pb 及 SV1 能显著对拟除虫菊酯类杀虫剂增效，因而小菜蛾对这类药剂的抗性机制是以 MFO 活性增强为主。对 Bt 制剂，增效剂 Pb、SV1 及 TPP 都无明显增效作用，说明小菜蛾对 Bt 的抗性与 MFO 及酯酶的关系不大。(3) 敏感品系小菜蛾在 Bt 制剂的连续选择压力作用下，会迅速对 Bt 产生抗药性，但该抗性品系小菜蛾对其他有机化学农药仍表现敏感；相反，用沙蚕毒素类杀虫剂巴丹及杀虫双选育出的抗性品系以及对拟除虫菊酯氰戊菊酯和有机磷 DDVP 有抗性的小菜蛾对 Bt 制剂表现敏感。因此对小菜蛾而言，有机化学农药和 Bt 制剂间无交互抗性关系。(4) 抗性品系小菜蛾在无触毒条件下，抗性会自然消退。

拟除虫菊酯和昆虫生长调节抑制剂抑太保的抗性较为稳定，而有机磷农药的抗性相对不稳定，较易恢复敏感性。Bt 制剂的抗性在无选择压力条件下也会逐步消退，抗性消退后重新施加压力，抗性会迅速恢复，且速度更快。

致谢 在研究中得到了孙耘芹、陈之浩等先生的指导和帮助，特此致谢!

参 考 文 献

1 Ankersmit G W. DDT-resistance in *Plutella maculipennis* (Cutis) (Lep.) in Java. Bull. Entomol. Res. 1953, **44**: 421 ~ 425

2 Barroga S G, Morallp－Rejesus B. A survey of diamondback moth (*Plutella xylostella* Linn) populations for resistance to insecticide in the Philippines. Phil. J. Plant Indus. 1974, **40** ~ **41**: 1 ~ 14

3 Asakawa M. Current status of insecticide resistance of agricultural insect pests. Plant Prot. 1975, **29**: 257 ~ 261

4 Sudderuddin K I *et al*. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* collected from the Cameron Highlands of Malaysia. FAO Plant Prot., Buu. 1978, **26**: 53 ~ 57

5 Sun C N *et al*. Diamondback moth resistance to diazinon and methomyl in Taiwan. J. Econ. Entomol. 1978, **71**: 551 ~ 554

6 Tabashnik B E *et al*. Diamondback (Lepidoptera: Platellidae) resistance to insecticides in Hawaii: IntraIsland variation and cross-resistance. J. Econ. Entomol. 1987, **80**: 1091 ~ 1099

7 唐振华等．抗性小菜蛾的乙酰胆碱酯酶敏感性．昆虫学报，1992, **35**(4): 385 ~ 391

8 唐振华等．解毒酯酶在小菜蛾幼虫抗药性中的作用．昆虫学报，1993, **36**(1): 8 ~ 13

9 陈之浩等．杀虫双和杀螟丹选育对小菜蛾抗药性的形成及其抗性机制．昆虫学报，1993, **36**(4): 409 ~ 418

10 张宗炳．杀虫药剂的毒力测定．北京：科学出版社，1988，178

A STUDY ON THE RESISTANCE OF DIAMONDBACK MOTH TO *BACILLUS THURINGIENSIS* IN GUANGDONG

Feng Xia　Chen Huanyu　Shuai Yingyuan　Xie Qihe　Lu Yuechang

(*The Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences Guangzhou* 510640)

Abstract The diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* L, is one of the most destructive pest of crucifer crops in Guangdong Province, China. The resistance of field strains of DBM from Shenzhen (SZ) and Guangzhou (GZ) city of Guangdong Province to conventional microbial insecticides has been investigated. Results showed that the strains of SZ and GZ had resistance to synthetic pyrethroids, organophoshorus insecticides, carbamates as well as insect growth regulators, but only the strains of SZ showed resistance to microbial insecticide (*B. thuringiensis*). Fenvalerate was greatly synergized with piperonyl butoxide (PB) or o,o -diethyl-o-phenyl-thiophosphate (SV1). An addition of PB, SV1 and TPP (triphenyl phosphate) to microbial insecticide BT resulted in no synergism, indicating that the resistant mechanism of DBM to BT does not include microsomal oxidation of MFO and esterases. Susceptible of DBM would obtain resistance to Dipel (*B. thuringiensis* var. *Kurstaki*) soon, when every generation was bred with Dipel under laboratory condition (23℃ ~ 30℃, L:D=12:12). The LC_{50} of F_0, F_5, F_{12} and F_{18} were 30.33, 298.00, 695.33 and 1077.33mg/L, respectively, the LC_{50} of F_{18} was 35.5-fold as that of F_0. On the other hand, during the 20 generations of rearing without insecticide pressure, recovery of sensitivity to BT was detected, so was the recovery of sensitivity to chemical insecticides, but the recovery of sensitivity to insect growth regulators (chlorfluazuron) and synthetic pyrethroids was very slow. Fortunately, no cross-resistance was found between the chemical and microbial insecticide (BT) used.

Key words *Plutella xylostella*, *Bacillus thuringiensis*, insecticide resistance, cross-resistance, synergism